

# Fehérjeglikoziláció az endoplazmás retikulumban mint lehetséges daganatellenes támadáspont

Doktori tézisek

**Dr. Konta Laura Éva**

Semmelweis Egyetem  
Molekuláris Orvostudományok Tudományági Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Csala Miklós egyetemi docens, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Csanády László egyetemi docens, Ph.D.  
Dr. Szakács Gergely tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság

elnöke: Dr. Rosivall László egyetemi tanár, D.Sc.

tagjai : Dr. Voszka István egyetemi adjunktus, Ph.D.

Dr. Deák Veronika egyetemi adjunktus, Ph.D

Budapest  
2012



## Bevezetés

Az endoplazmás retikulum (ER) az eukarióta sejt legnagyobb membránnal határolt organeluma, melynek mérete és morfológiai sajátossága a különböző sejtípusokra jellemző folyamatoktól függően igen széles határok között változhat. A durva felszínű ER központi szerepet tölt be a szekrécióra és a plazmamembránba, valamint a sejt különböző organelumainak membránrendszerébe kerülő fehérjék szintézisében, ko- és poszttranszlációs módosításaiban, illetve e fehérjék minőségellenőrzésében és az ER-asszociált degradációban. A számos speciális ko- és poszttranszlációs módosítások közül az egyik legjelentősebb folyamat az N-glikoziláció, mely során a fehérje kitüntetett aszparagil egységeinek amid csoportjához egy 14-tagú oligoszacharid lánc ( $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ ) kapcsolódik. Az N-glikoproteinek érése során az egységes oligoszacharid oldalláncokról a glukozidáz és mannozidáz enzimek meghatározott sorrendben hidrolizálják a glukóz és mannóz alegységeket. Első lépésként a szélső glukóz alegységet a glukozidáz I (ER membránjához kötött) enzim távolítja el az  $\alpha 1,2$  kötés hidrolizálása révén, majd a két maradék glukóz alegységet a glukozidáz II enzim hasítja le a köztes  $\alpha 1,3$  kötések hidrolizálásával. Az első két disztális glukóz lehasítása gyorsan végbemegy, míg a proximális glukóz hasítása jóval lassabban, szabályozott lépésként következik be. Az újonnan szintetizált N-glikoproteinek minőségellenőrző folyamatában a glukozidáz II enzimnek kiemelten fontos szerepe van ennek a kitüntetett jelentőséggel bíró, proximális glukóz egységnek a hasítása révén. A minőségellenőrzés hivatott biztosítani az újonnan szintetizált fehérjék megfelelő érését, valamint megakadályozza, hogy a hibás – vagy még éretlen – fehérjék sejten belüli rendeltetési helyükre szállítódjanak vagy szecernálódjanak.

A glikoproteinek minőség-ellenőrző rendszere, a kalnexin-kalretikulin ciklus egy különösen jól ismert primer minőség-ellenőrző folyamat. Ez a rendszer felelős a glikoproteinek megfelelő tekeredéséért, a rosszul a hajtogatott fehérjék ER-ben tartásáért (amíg a fehérjék megfelelő konformációjukat el nem érik), szerepet játszik továbbá a rosszul hajtogatott fehérjék lebontásában is. A kalnexin/kalretikulin ciklus be- és kikapcsolásáért két egymástól független enzim felelős. A glukozidáz II a monoglukozilált glikánok kitüntetett glukóz alegységének hidrolízise révén szabályozza a glikoproteinek disszociációját a chaperonról. Ezt követően az érett, natív fehérje továbbhaladhat a szekréciós útvonalon, a még éretlen polipeptid azonban vagy újraglukozilálódik UDP-glukóz: glikoprotein-glukoziltranszferáz révén, és az ER chaperonjai ismételt kísérletet tesznek kijavítására, vagy egy mannóz alegysége is lehasad az  $\alpha$ 1,2 mannozidáz I révén, majd az ERAD útján a proteasómákban lebontásra kerülnek.

A glukozidáz II enzimnek központi szerepe van mind a fehérjeérésben, mind a glikoproteinek minőségellenőrzésében.

Amennyiben az ER fehérjeérlelő kapacitása nem tud lépést tartani a polipeptid láncok szintézisével, akkor a nem megfelelően hajtogatott („unfolded” vagy „misfolded”) fehérjék felhalmozódnak a lumenben, ami beindíthatja az UPR („unfolded protein response”) folyamatát. Ez az összetett sejtválasz alapjában véve három transzmembrán receptoron keresztül valósul meg: PERK („pancreatic ER kinase”), ATF6 („activating transcription factor 6”) és az IRE1 („inositol requiring enzyme 1”). A nyugalomban lévő sejtekben mindhárom receptort inaktív állapotban tartja a GRP78 ER chaperon. Amikor a nem megfelelően hajtogatott fehérjék felhalmozódnak az ER lumenében, a GRP78 chaperonok disszociálnak a receptorokról és az éretlen fehérjékhez kötődnek. A receptorok e folyamat révén aktiválódnak és beindítják az UPR-t. Az UPR alapvető célja az ER

terhelése és teljesítőképesége közti megbomlott egyensúly helyreállítása (fehérjeszintézis feltartóztatása, chaperonok és foldázok szintézisének fokozása, ER méretének növelése, ERAD stimulálása). Az aktiválódott PERK foszforilálja az eukarióta iniciációs faktor  $2\alpha$  alegységét (eIF2 $\alpha$ ), ezáltal gátolja a „cap-dependent” úton keletkező fehérjék translációját. Ha azonban az UPR nem tudja kijavítani a hibákat, és az ER-stressz perzisztál, akkor többféle jelpálya útján is apoptózishoz vezető folyamatok indulnak meg. Az apoptózis irányába való elköteleződést a CHOP és JNK faktorok megjelenése jelzi. Végso soron a különböző transzkripciós faktorok, kinázok és a Bcl-2 család tagjai a kaszpáz kaszkád aktiválásán keresztül sejthalálhoz vezetnek. A kaszpázok közül az ER eredetű apoptózis kiváltásában legnagyobb jelentőséget a kaszpáz-12-nek tulajdonítanak. A kaszpáz-12 egerekben fordul elő, emberben a kaszpáz-4-nek tulajdonítanak ehhez hasonló jelentőséget.

Az ER stressz és ER stressz eredetű apoptózis az elmúlt időszakban a tumorelles terápia érdeklődési körébe került.

Ismert tumorelles vegyületek a teakatekinek. A katekinek, akárcsak a vörösbóiban található resveratrol, a polifenolok csoportjába tartozó vegyületek. A fekete tea polifenoltartalma mindössze 3-10%, míg a zöld tea szárazanyagtartalmának 30-42%-át a katekinek teszik ki. Ez a különbség a tealevelek eltérő feldolgozási módjából adódik. A fekete teában a polifenol oxidáz révén a katekinek tearubiginné, teaflavinná alakulnak, ezzel szemben a zöld tea esetében a tealeveleket gőzőlik vagy pörkölík, melynek a legfontosabb biokémiai következménye, hogy a polifenol-oxidáz enzim elveszti aktivitását, így a katekinek nem oxidálódnak, hanem eredeti állapotukban megmaradnak. Többféle katekin található a teában: az epikatekin (EC), epikatekin-gallát (ECG), epigallokatekin (EGC), epigallokatekin-gallát (EGCG), katekin és gallokatekin (GC). A

legjelentősebb katekin az EGCG, ami a katekin tartalom 50-65%-t adja, emellett az EGCG jótékony hatásainak van a legszélesebb körű szakirodalma is.

A zöld tea tulajdonságai közül tumorelles hatásai a legismertebbek és leginkább tanulmányozottak. Mind az állatkísérletek, mind a humán vizsgálatok egyértelműen bizonyították a teakatekinek kemopreventív tulajdonságait. A tudományos irodalmat áttekintve több mint 1600 publikáció foglalkozik a zöld tea tumorelles, elsősorban kemopreventív hatásaival. Kimutatták, hogy a teakatekinek gátolják a proliferációt, gátolják az angiogenezist, sőt tumoros sejtvonalakon apoptózishoz is vezetnek.

### **Célkitűzések**

Mivel az ER egyrészt számos sejtproliferációt és apoptózist szabályzó fehérje szintézisének helye a sejtben, másrészt az apoptózis jelátviteli útvonalainak egyik jól ismert – és egyre nagyobb jelentőségű – modulátora, felállítottuk azt a hipotézist, mely szerint a teaflavanolok ezen organelum révén is kifejtetik tumorelles és pro-apoptotikus hatásait. Munkánk céljából tűztük ki annak feltárását, hogy a teakatekinek – elsősorban az EGCG – hogyan befolyásolják az ER-ben zajló fehérjeérelést és minőségellenőrzést, valamint ezen keresztül kiváltanak-e ER-eredetű programozott sejthalált. Mindez lehetőséget nyújt újabb mechanizmusok feltárására a teaflavanolok széles körben tanulmányozott tumorelles hatásainak hátterében, valamint új daganatellenes támadáspontok azonosítására is.

Hipotézisünk egyik kulcskérdése, hogy EGCG hatására a glikoproteinek érése zavart szenved-e az ER lumenében. Ennek megválaszolásához – az ilyen jellegű vizsgálatokra korábban már

alkalmasnak bizonyult – tirozináz enzimet használtuk fel modellként, majd kísérleteinket kiterjesztettük egy olyan glikoproteinre is (VEGF), amely a daganatképződéssel, daganatnövekedéssel és vaszkularizációval közvetlenül is kapcsolatba hozható.

Munkánk során tehát a következő kérdéseket vizsgáltuk:

- Hogyan hatnak a különböző teaflavanolok az ER glukozidáz II enzimének aktivitására máj mikroszómában, illetve hepatóma sejtekben?
- A glukozidáz II gátlása kivált-e az ER-stresszt a hepatóma sejtekben, és észlelhetők-e ilyenkor az ER-eredetű proapoptotikus mechanizmusok mint az UPR részjelenségei?
- A melanóma sejtekben található (endogén) tirozináz enzim mennyiségét csökkenti-e az EGCG-vel végzett kezelés?
- A tirozináz csökkent mennyisége valóban poszttranszlációs szinten (az érés fázisában) érvényesül-e, és kivédhető-e a proteaszóma gátlásával?
- A glikoproteinek érésének – hipotézisünk szerint általános – zavara okoz-e csökkenést más, a tumornövekedés szempontjából elsődlegesen fontos fehérje (VEGF) mennyiségében is?

## **Módszerek**

A kérdések megválaszolásához patkány májból izolált mikroszómát, Hepa1c1c7 eger hepatóma és Sk-Mel28 humán melanóma sejteket egyaránt felhasználtunk. A máj mikroszóma zömében ER membránból álló és eredeti orientációját megőrző vezikulumokból áll, ezért kiválóan alkalmas ER enzimek aktivitásának vizsgálatára. A glukozidáz II enzim aktivitását különböző katekinek és a pozitív kontrollként használt NBDJ mellett

patkány máj mikroszómán vizsgáltuk két specifikus mesterséges szubsztrátja, a metil-umbelliferil-glukozid és a nitrofenil-glukozid jelenlétében. A keletkező metil-umbelliferont fluoriméterrel, a nitrofenolt HPLC-vel detektáltuk.

A hepatóma sejtek – máj eredetüknél fogva – rendszerint jelentős mennyiségű, és fehérjét intenzíven szintetizáló ER hálózattal rendelkeznek, ezért indokoltnak találtuk az ER-stressz és az UPR jelenségeit, valamint az ER-eredetű apoptózist ilyen sejteken vizsgálni. Az ER-stressz tanulmányozása során az egyes stresszmarker fehérjék (CHOP/GADD153, kaszpáz-12, foszforilált és foszforilálatlan eIF2 $\alpha$  és különböző chaperonok) szintjét Western-blot analízis segítségével vizsgáltuk. Az apoptózist a minták annexines és propidium-jodidos festését követően fluoreszcens mikroszkóp segítségével vizsgáltuk. Miután a különböző színű sejteket a mikroszkóp alatt megszámoltuk, meghatároztuk az apoptózis indexet, ami 100 sejtre jutó apoptotikus sejtek/testek számát jelenti.

A glikoprotein érés tanulmányozására egy széles körben használt modellt, a tirozináz enzimet választottuk. A tirozináz enzim 6 N-glikozilációs oldallánccal rendelkező fehérje, mely a melanocitákban szintetizálódik, és a melanin szintézis sebességmeghatározó lépését katalizálja. A melanóma sejtvonalon a tirozináz enzim mennyiségét aktív tirozináz enzim mennyiségén alapuló in situ detektálási módszerrel vizsgáltuk és Western blot analízissel. A sejtek endogén VEGF termelése lehetővé tette a modellfehérjén túl egy olyan glikoprotein vizsgálatát is, melynek közvetlen szerepe van a tumorok vaszkularizációjában. A VEGF és HIF1 $\alpha$  fehérjeszinteket, illetve a kontrollként használt  $\beta$ -aktin szintjét a sejtlizátumokban Western blot analízissel vizsgáltuk



A tirozináz, VEGF és HIF1 $\alpha$  mRNS mennyiségének a nyomonkövetésére a glukozidáz inhibitorok jelenlétében RNS izolálást követően kvantitatív real-time PCR-t végeztünk.

Minden eredményhez 3 független kísérletet és egy-egy kísérletnél 3 párhuzamos mérést végeztünk. Az eredményekből átlagértéket és standard deviációt számoltunk, majd az így kapott értékeket egymással az „Anova with Tukey’s multiple comparsion post hoc” teszt segítségével hasonlítottuk össze. A különbségeket 0,05-nél kisebb P érték esetén tekintettük szignifikánsnak.

## **Eredmények**

Elsőként megvizsgáltuk a teaflavanolok glukozidáz II enzimre gyakorolt közvetlen hatását patkány máj mikroszómában. Pozitív kontrollként NBDJ-t (N-butil-deoxinójirimicin) alkalmaztunk, ami a glukozidáz I-II enzim ismert specifikus gátlószere. Miután megállapítottuk, hogy a mesterséges szubsztrátok transzportja sebességhatározó, a vezikulumok membránját pórusképző alameticinnel permeabilizáltuk, ami lehetővé teszi a szubsztrátok és a gátlók szabad bejutását a mikroszóma lumenébe.

Összehasonlítva a glukozidáz II különböző teakatekinek általi gátlásának koncentrációfüggését, megállapítottuk, hogy jelentős különbség van e vegyületek hatékonyságában. Az EGC és a GC, melyekből hiányzik a gallát csoport, kevésbé voltak hatékonyak, mint a többi vizsgált flavanol. Ugyanakkor a gallo csoport kapcsolódásának konfigurációja is nagyban befolyásolta a gátló hatást: a GCG IC<sub>50</sub> és K<sub>i</sub> értékei szinte megegyeztek az NBDJ esetében kapott értékekkel, míg az EGCG hatékonysága ennél kisebb volt. Bár a vizsgált flavanolok között az EGCG nem bizonyult a glukozidáz II leghatékonyabb gátlószereinek, a továbbiakban mégis ezzel végeztük a

vizsgálatokat, mert ez van jelen a legnagyobb mennyiségben a zöld tea levelében és annak főzetében, valamint e katekint tanulmányozták legkiterjedtebben, és így erről áll rendelkezésre a legtöbb adat.

A glukozidáz II EGCG általi gátlását – a hatás kinetikai jellemzése céljából – tovább vizsgáltuk patkány máj mikroszómában, a glukozidáz II aktivitás mindkét mesterséges szubsztrát alkalmazásakor – bár eltérő kinetikai paraméterekkel jellemezhető – Michaelis-Menten kinetikát mutatott. EGCG-kezelés hatására, mindkét szubsztrát alkalmazásakor, a  $v_{\max}$  megközelítően negyedére csökkent, míg a  $K_M$  érték nem változott a, vagyis a gátlás kinetikailag nem-kompetitív típusúnak bizonyult.

A mikroszómán végzett kísérletek után kimutattuk, hogy az EGCG a Hepa1c1c7 egér hepatóma sejtekben is gátolja a glukozidáz II aktivitását. Ez a hatás mind alameticinnel permeabilizált, mind intakt sejteken megfigyelhető és hasonló mértékű volt. Az intakt sejtekben észlelt hatás legalább 12 órán át változatlan maradt, vagyis tartós kezelések esetén tartós enzimgátlással lehet számolni. A permeabilizált sejtek progresszív pusztulása megakadályozta, hogy azokban három óránál tovább vizsgáljuk a gátlást, de erre nem is volt szükség. A plazma membrán és ER membrán permeabilizálásának az volt a szerepe, hogy lássuk, a hepatóma sejtekben is közvetlenül az enzimen hat az EGCG és nem a mesterséges szubsztrát (MUG) bejutását akadályozza, aminek nem volna relevanciája.

Mivel a glukozidáz II enzim működése kulcsfontosságú az ER glikoprotein-érési és -minőségellenőrzési folyamataiban, feltételezhető volt, hogy az azt gátló EGCG ER-stresszt és UPR-t vált ki, amely akár a sejtek apoptózisához is vezethet. Várakozásainknak megfelelően, az EGCG-vel kezelt sejtekben az UPR számos részjelensége (eIF2-foszforiláció, CHOP-indukció, prokaspáz-12 hasítása) megfigyelhető volt, és ezek egy része kapcsolatba hozható az apoptózis progresszív fokozódásával is. Érdekes,

hogy az ER chaperonjainak indukciója – amelyet az UPR tipikus markereként szokás vizsgálni – elmaradt. A hepatóma sejteken végzett kísérleteink tehát azt támasztják alá, hogy ebben az intenzív fehérjeszekréciót folytató sejtben az EGCG-kezelés ER-stresszt és részleges UPR-t vált ki, amely hozzájárulhat a sejtek pusztulásához is.

Megfigyeléseink tovább erősítették hipotézisünket, mely szerint az EGCG a glukozidáz II gátlásán keresztül megzavarja a glikoproteinek érését és minőségellenőrzését az ER lumenében. A továbbiakban célul tűztük ki a feltételezett mechanizmus vizsgálatát. Kísérleteinkhez melanóma sejteket és az általuk szintetizált (endogén) tirozináz enzimet választottuk. A tirozináz ugyanis könnyen kimutatható poliglikozilált glikoprotein enzimfehérje, amelyet ezért széles körben alkalmaznak a glikoproteinek érésének tanulmányozására. A tirozináz, a melanocitákban termelődő enzim a melanin pigment szintézisének sebességmeghatározó lépését katalizálja. Az EGCG-kezelésnek az érett tirozináz fehérje mennyiségére gyakorolt hatását Sk-Mel 28 melanóma sejteken vizsgáltuk. Az intakt sejteken folytatott aktivitásmérések csak hozzávetőleges mennyiségi meghatározásra alkalmasak, azonban jól mutatták, hogy az EGCG-vel vagy DNJ-vel kezelt sejtekben jelentősen csökkent a pigmenttermelés. Fontos megjegyezni, hogy az EGCG közvetlenül nem befolyásolta a tirozináz enzim működését, tehát a jelenség az aktív tirozináz enzim mennyiségének változásán alapult. A Western blottal és natív elektroforézissel végzett méréseink szerint a tirozináz fehérje mennyiségét az EGCG valóban szignifikánsan csökkentette, és az effektus idő- és koncentrációfüggőnek bizonyult. Ezzel összhangban voltak morfológiai vizsgálataink eredményei. Az EGCG-vel kezelt sejtekben ugyanis a melanoszómák száma is csökkent és struktúrája is megváltozott, aminek hátterében az organelumot alkotó fehérjekomponensek csökkent termelődése állhat.

A fehérjemennyiség csökkenése mögött persze a transzkripció vagy az mRNS érésének és féléletidejének változása is feltételezhető; ezért kvantitatív „real-time” PCR analízissel hasonlítottuk össze a tirozináz mRNS-ének mennyiségét a kezelt és kezeletlen sejtekben. Eredményeink azt mutatták, hogy a glukozidázinhibitorok nem változtatták szignifikáns mértékben a tirozináz mRNS mennyiségét, tehát a tirozináz glikoprotein szintjének csökkenése transzlációs vagy poszttranszlációs hatás következménye volt.

Kiinduló hipotézisünk szerint az EGCG poszttranszlációs szinten hat, hiszen a fehérjeérést és -minőségellenőrzést zavarja meg az ER lumenében. Amennyiben igaz a feltételezésünk, az éretlen – de legalábbis éretlennek ítélt – tirozináz glikoprotein molekulák sikertelen korrekciós kísérletek után az ERAD-on keresztül eliminálódnak. Ebben az esetben az ERAD, illetve a proteasomális fehérjelebontás gátlásával az EGCG hatása jelentősen csökkenthető vagy akár ki is védhető.

Az általunk vizsgált melanóma sejtekben proteasómainhibitor laktacisztin hatására nem észleltünk érdemi változást a tirozináz fehérje aktivitásában és mennyiségében, ami arra utal, hogy normál körülmények között a proteasomális lebontásnak nincs érdemi szerepe a tirozináz fehérje kifejeződésének szabályozásában. Laktacisztin jelenlétében azonban az EGCG és a DNJ sem csökkentette a sejtek tirozináz aktivitását, valamint a tirozináz fehérje mennyiségét, ami azt jelenti, hogy e két glukozidázgátlóval kezelt sejtekben a tirozináz fehérje mennyisége valóban a fokozott proteasomális lebontás következtében csökkent, és ezért a hatást az ERAD akadályozása kivédi. Megjegyzendő, hogy eredményeink szerint az éretlenségi jelként megmaradt glukóz egységet tartalmazó és az ERAD rendszerében lebomló tirozináz fehérje már rendelkezik enzimaktivitással. Ez magyarázhatja azt a jelenséget, hogy az ERAD kiküszöbölése nem

csupán a tirozináz fehérje mennyiségét, hanem a tirozináz aktivitást is növeli.

Mindazonáltal, kísérleteinkben a tirozináz elsősorban a glikoprotein-érés és -minőségellenőrzés modelljeként szerepelt, és a tirozináz fehérje érésének gátlását főként mint a glikoprotein-érés általános zavarának jelét tartjuk fontos megfigyelésnek.

Az EGCG és a DNJ a tirozinázhoz hasonlóan a másik vizsgált glikoprotein, a VEGF termelődését is poszttranszlációs mechanizmussal gátolta a kezelt melanóma sejtekben. A VEGF fehérje mennyisége jelentős mértékben csökkent az EGCG-vel vagy DNJ-vel kezelt sejtekben, annak ellenére, hogy a HIF1 $\alpha$  mennyisége és az mRNS-szintek változatlanok maradtak. Ráadásul ezt a hatást is ki lehetett védeni a proteaszóma laktaciszin általi gátlásával. Eredményeink tehát bizonyítják, hogy az EGCG poszttranszlációs szintű fehérjeérési zavart okoz az ER lumenében, amelynek hátterében a glukozidáz II enzim gátlása állhat.

### **Következtetések**

Munkánk során a teaflavanolok, elsősorban az EGCG glukozidáz II enzimre, és – ezen keresztül – az ER-ben zajló fehérjeérésre kifejtett hatását tanulmányoztuk. Kíváncsiak voltunk, hogy e hatóanyag előidézi-e az ER-ben érlelt glikoproteinek felhalmozódását és következményes proteasomális lebomlását. Arra a kérdésre is kerestük a választ, hogy az EGCG hatására megfigyelt tumorsejt-apoptózis összefüggésbe hozható-e az ER-ben kialakult stressz állapottal, és az ennek hatására aktiválódó UPR-rel.

Eredményeinkből az alábbi következtetésekre jutottunk:

1. A vizsgált teaflavanolok egy része – köztük az EGCG – hatékonyan gátolja az ER glukozidáz II enzimét máj mikroszómában. E katekinek koncentráció-hatás görbéi alapján meghatározott gátlási paraméterei összevethetők voltak a széles körben alkalmazott glukozidázgátló DNJ-éhez. Az EGCG-által kifejtett enzimgátlás kinetikai jellemzése máj mikroszómában nem kompetitív mechanizmusra utalt.
2. A glukozidáz II enzim gátlása EGCG-vel kezelt, intakt hepatóma sejteken is kimutatható volt, és együtt járt az ER-stressz kialakulásával. Az EGCG hatására kialakult részleges UPR nem járt ugyan az ER chaperonjainak indukciójával, de az eIF2 $\alpha$  foszforilációja mellett ER eredetű proapoptotikus elemeket (CHOP indukciója, prokaspáz-12 hasítása) is magában foglalt. Ezek összefüggésbe hozhatók az EGCG-vel kezelt sejtek fokozott apoptózisával.
3. Sk-Mel 28 melanóma sejteken az EGCG és a DNJ koncentráció- és időfüggő módon csökkenti két glikoprotein, a tirozináz és a VEGF mennyiségét. A kezelt sejtekben nem változott a tirozináz és VEGF mRNS-ének mennyisége, valamint a HIF1 $\alpha$  szintje. A két szer hatását a proteaszómagátló laktaciszтин alkalmazásával ki tudtuk védeni. Mindez arra utal, hogy a tirozináz és a VEGF mennyiségének csökkenése háttérben e glikoproteinek érésének és -minőségellenőrzésének zavara áll, és összefügghet a glukozidáz II enzim gátlásával.

Az általunk leírt jelenség a glukozidázgátlók tumorelleses (proapoptotikus és antiproliferatív) hatásának új mechanizmusait tárják fel. A glikoproteinek érésének és -minőségellenőrzésének általános zavara ER-

stresszt és következményes UPR-aktiválódást eredményezhet, ami számos mechanizmus révén fokozhatja a sejtek apoptóziskészségét. Emellett bizonyos glikoproteinek közvetlen szerepet játszanak a sejtproliferáció szabályozásában, és – patológias körülmények között – a daganatnövekedésben és áttétképződésben. E fehérjék érésének megzavarása és ERAD felé terelése szintén hozzájárulhat a glukozidázgátlók daganatellenes aktivitásához. Eredményeink tehát a teaflavanolok ismert tumorelles hatásának jobb megértése mellett új terápiás célpontokat is kínál az ER-ben.

### **Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények**

1. Gamberucci A\*, **Konta L\***, Colucci A, Giunti R, Magyar JÉ, Mandl J, Bánhegyi G, Benedetti A, Csala M. (2006) Green tea flavonols inhibit glucosidase II. *Biochem Pharmacol*, 72: 640-646. IF: 3,581  
*\*megosztott első szerzőség*
2. Magyar JÉ, Gamberucci A, **Konta L**, Margittai É, Mandl J, Bánhegyi G, Benedetti A, Csala M (2009) Endoplasmic reticulum stress underlying the pro-apoptotic effect of epigallocatechin gallate in mouse hepatoma cells. *Int J Biochem Cell Biol*, 41: 694-700. IF: 4,009
3. **Konta L**, Száraz P, Magyar JÉ, Révész K, Bánhegyi G, Mandl J, Csala M. (2011) Inhibition of glycoprotein synthesis in the endoplasmic reticulum as a novel anticancer mechanism of (-)-epigallocatechin-3-gallate. *BioFactors*, 37: 468-476. IF: 4,933

### **Egyéb saját közlemények**

1. Révész K, Tüttő A, **Konta L**. (2007) Zöldtea-flavanolok hatása az endoplazmás retikulum működésére. *Orvosi Hetilap*, 40: 1903-1907.
2. Révész K, Tüttő A, Szelényi P, **Konta L**. (2011) Tea flavan-3-ols as modulating factors in endoplasmic reticulum function. *Nutr Res*, 31: 731-740. IF: 1,974